

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP04/019717

International filing date: 22 December 2004 (22.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP
Number: 2004-7955
Filing date: 15 January 2004 (15.01.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 17 February 2005 (17.02.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

22.12.2004

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2 0 0 4 年 1 月 1 5 日

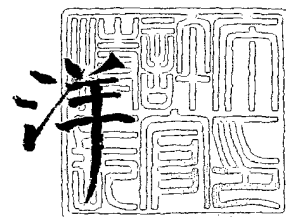
出 願 番 号
Application Number: 特 願 2 0 0 4 - 0 0 7 9 5 5
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 4 - 0 0 7 9 5 5]

出 願 人
Applicant(s): グレラン製薬株式会社

2 0 0 5 年 2 月 4 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小 川



【書類名】 特許願
【整理番号】 P00000447
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 A61K 31/05
A61K 31/122
A61K 31/385
A61P 9/101

【発明者】
【住所又は居所】 愛知県名古屋市瑞穂区春山町 6 - 1 1 - 1 0 2
【氏名】 横山 信治

【発明者】
【住所又は居所】 愛知県名古屋市瑞穂区中山町 1 - 1 0 - 1 - 2 0 1
【氏名】 辻田 麻紀

【発明者】
【住所又は居所】 東京都羽村市栄町 3 - 4 - 3 グレランリサーチセンター内
【氏名】 荒川 礼二郎

【発明者】
【住所又は居所】 東京都羽村市栄町 3 - 4 - 3 グレランリサーチセンター内
【氏名】 青塚 知士

【特許出願人】
【識別番号】 000105121
【氏名又は名称】 グレラン製薬株式会社
【代表者】 野口 尚志

【手数料の表示】
【予納台帳番号】 005393
【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】
【物件名】 特許請求の範囲 1
【物件名】 明細書 1
【物件名】 要約書 1

【書類名】特許請求の範囲

【請求項 1】

プロブコールスピロキノン、プロブコールジフェノキノンおよびプロブコールビスフェノールまたはそれらの塩から選択されるビスフェノール型化合物を有効成分とするABCA1安定化剤。

【請求項 2】

請求項 1 に記載のABCA1安定化剤からなる低HDL血症予防・治療剤。

【請求項 3】

請求項 1 に記載のABCA1安定化剤からなる動脈硬化症予防・治療剤。

【請求項 4】

請求項 1～3 に記載のABCA1安定化剤、低HDL血症予防・治療剤または動脈硬化症予防・治療剤に糖尿病治療薬、糖尿病合併症治療薬、抗肥満薬、高血圧治療薬、高脂血症治療薬、利尿剤、抗血栓剤またはアルツハイマー病治療薬から選択される 1 種以上の薬剤を組み合わせることからなる薬剤。

【書類名】明細書

【発明の名称】ABCA1安定化剤

【技術分野】

【0001】

本発明は、プロブコール (probucol) の代謝物として知られ、以下の化学名で定義される化合物であるプロブコールスピロキノン (化学名: 2, 4, 9, 11-テトラキス (1, 1-ジメチルエチル)-14, 14-ジメチル-13, 15-ジチアジスピロ [5. 0. 5. 3] ペンタデカ-1, 4, 8, 11-テトラエン-3, 10-ジオン)、プロブコールジフェノキノン (化学名: 3, 5, 3', 5'-テトラ-ト-ブチル-4, 4'-ジフェノキノン) およびプロブコールビスフェノール (化学名: 4, 4'-ジハイドロキシ-3, 5, 3', 5'-テトラ-ト-ブチルジフェニル) から選択されるビスフェノール型化合物を有効成分とするABCA1 (ATP-binding cassette transport 1; ATP結合領域輸送体-1) 安定化剤、および同ABCA1安定化剤からなり、ABCA1の発現低下に起因すると考えられる種々の疾患に対する予防・治療剤、特に低HDL (high-density lipoprotein; 高密度リポタンパク質) 血症予防・治療剤および動脈硬化症予防・治療剤に関するものである。なお、ここでATPとは、アデノシン5'-三リン酸を指し、生体におけるエネルギー代謝に関与し、エネルギーの獲得および利用に重要な役割を果たすものである。

【背景技術】

【0002】

プロブコールは、4, 4'-イソプロピリデンジチオビス (2, 6-ジ-ト-ブチルフェノール) の化学名を有する物質で、コレステロールの胆汁中への異化排泄促進作用を主作用とし、さらにLDL (low-density lipoprotein; 低密度リポタンパク質)-コレステロールの異化率亢進作用および血清総コレステロール低下作用等を有し、脂質代謝を改善する高脂血症用剤 (家族性高コレステロール血症、黄色腫を含む) として広く使用されている。

しかし、プロブコールは、同様にLDL低下作用を有する他の高脂血症用剤、例えば、HMG-CoA還元酵素阻害剤として知られるプラバスタチンおよびシンバスタチン等のスタチン系高脂血症用剤、あるいはフィブラート系高脂血症用剤として知られているフェノフィブラートおよびベザフィブラート等とは異なり、HDL分画のコレステロール (以下、「HDL-コレステロール」ともいう) を低下させるという臨床上好ましくない作用を有しており (例えば、非特許文献1および2参照。)、同低下作用はABCA1の機能阻害によるものであると考えられている (例えば、非特許文献3, 4および5参照)。

【0003】

このプロブコールを哺乳動物に経口投与した場合の代謝物として、本発明に係るプロブコールスピロキノン、プロブコールジフェノキノンおよびプロブコールビスフェノールが産生されることが判明している (例えば、非特許文献6参照。)

【0004】

上記プロブコールスピロキノン、プロブコールジフェノキノンおよびプロブコールビスフェノール (以下、合わせて「ビスフェノール型化合物」ともいう) の薬理活性に関しては、現在までいくつかの知見が得られている。例えば、プロブコールビスフェノールが抗酸化作用を有することから、リポタンパク質酸化抑制剤として、プロブコールとの組成物が開示されている (例えば、特許文献1参照)。また、ビスフェノール型化合物による細胞内へのコレステロールの取込に関する知見も得られている (例えば、非特許文献7参照)。しかし、これらの先行技術において、ビスフェノール型化合物のABCA1およびHDL等に対する作用については全く知られていない。

【0005】

HDLは、主に肝臓と小腸上皮細胞で合成、分泌されるアポタンパク質A-I (以下、「apoA I」ともいう) などのヘリックス型アポリポタンパク質と細胞膜に存在するタンパク質ABC A1の作用で生成する脂質・タンパク質複合粒子である。産生直後のHDLは、apoAIとリン脂質を主成分とする円盤状粒子で、原始HDLとも呼ばれる。この原始HDLは、血中で末梢細胞

の細胞膜から、もしくは他のリポタンパク質の表面から遊離コレステロールを受け取り、これをLCAT (lecithin cholesterol acyltransferase) の作用でコレステロールエステルとして疎水性部分の中心に保持したままの状態、球状HDLへと成熟する。

【0006】

上記の過程において、HDLは、血中で末梢組織から余剰となったコレステロールを引き抜き、これを肝臓に転送する「コレステロール逆転送系」と呼ばれる脂質代謝の中でも極めて重要な生理機能において主要な役割を果たしている。すなわち、このコレステロール逆転送系は、血管壁の細胞に蓄積するコレステロールを除去する方向に働き、動脈硬化に対して予防的に作用するものとされている。

血中HDLコレステロール濃度と動脈硬化の関係については、これまでに多数の疫学調査が実施された結果、最近になって、HDLコレステロール濃度が低いほど動脈硬化の発症頻度が高いという事実が明らかになっている。従って、低HDL血症を改善することは、現在広く行われている前述のスタチン系ないしフィブレート系高脂血症用剤によるLDLを低下させる治療以上に、動脈硬化の予防・治療の重要かつ新規な技術である。

【0007】

現在、血中のHDL量は、HDLコレステロールの濃度を指標として測定され、一般に血中HDLコレステロールの値が40mg/dl未満である場合、「低HDL血症」と診断される。

【0008】

この低HDL血症は、動脈硬化症を始め、高脂血症、脳梗塞、肥満、糖尿病等の種々の疾患における危険因子として高頻度で見られるほか、Tangier病を始めとする様々な遺伝的疾患においても見られるが、HDL自体に作用する有用な低HDL血症予防・治療剤は見当たらず、その出現が望まれていた。

【0009】

上記低HDL血症の改善のため、現在まで、HDLを上昇させるための種々の試みが行われている。そのような試みの中、ABCA1について、いくつかの薬理作用が知られている。

ABCA1は、肝臓、小腸、胎盤、副腎を始めとする各種臓器の細胞の主に細胞膜に存在するタンパク質であり、脂質、アミノ酸、ビタミン、糖等の様々な物質の膜輸送に関与していると考えられるABC蛋白質ファミリーに属するものの一つである（例えば、非特許文献8参照。）。

さらに、最近の知見により、ABCA1は細胞の脂質からHDLが生ずる反応に不可欠な蛋白質であり、HDL産生の律速因子であることが分かってきた。またABCA1によるHDL新生は細胞コレステロールの主要な放出経路であることも明らかにされた。

例えば、ABCA1遺伝子に変異があり、その発現が見られないTangier病患者においては、血漿HDLが殆ど消失する（例えば、非特許文献9、10および11参照。）。また、ABCA1遺伝子の導入がHDLの新生反応を促進することが見出され（例えば、非特許文献12および13参照。）、現在、遺伝子工学の技術を用いて体内のABCA1の発現量を増加させ、HDLコレステロールの濃度を上昇もしくは調節しようとする試みも行われている。

【0010】

例えば、コレステロールの放出とHDL濃度の上昇を図るため、直接ABCA1をコードする遺伝子を宿主細胞に導入することによりABCA1の発現量と活性を高めている（例えば、特許文献2および3参照。）。また、HDLコレステロールとトリグリセリドの濃度を調節するため、特定の物質によりABCA1遺伝子の転写・翻訳を亢進させ、ABCA1の発現量と活性を高めている（例えば、特許文献4参照。）。さらに、コレステロールの細胞外への放出を調節するため、核内受容体として様々な作用を有するペルオキシソーム増殖剤応答性受容体- α (PPAR- α) またはペルオキシソーム増殖剤応答性受容体- δ (PPAR- δ) を活性化させ、ABCA1の発現量を高めている（例えば、特許文献5参照。）。

しかしながら、これらのABCA1ないしHDLに着目した従来技術においては、いずれも遺伝子工学の技術を用いるか、核内受容体を活性化する方法によるものであり、遺伝子治療の技術自身が未成熟であったり、未知の遺伝子の起動による予期せぬ副作用の危険が払拭できないといった欠点があり、薬剤としての使用については、未だ成功に至っていない。

【特許文献1】国際公開第02/04031号パンフレット

【特許文献2】国際公開第00/78971号パンフレット

【特許文献3】国際公開第00/78972号パンフレット

【特許文献4】国際公開第01/15676号パンフレット

【特許文献5】特開2003-12551号公報

【非特許文献1】「サーキュレーション (CIRCULATION)」, (米国), 79, 1989年, p16-28

【非特許文献2】「ジャーナル オブ カルディオバスキュラー ファーマコロジー (JOURNAL of CARDIOVASCULAR PHARMACOLOGY)」, (米国), 30, 1997年, p784-789

【非特許文献3】「バイオケミストリー (BIOCHEMISTRY)」, (米国), 35 (40), 1996年, p13011-13020

【非特許文献4】「バイオケミカ エト バオイフィジカ アクタ (BIOCHIMICA et BIOPHYSICA ACTA)」, (オランダ), 1483, 2000年, p199-213

【非特許文献5】「アテリオスクレロシス, トロンボシス, アンド バスキュラー バイオロジー (Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology)」, (米国), 21, 2001年, p394-400

【非特許文献6】「アナリティカル ケミストリー シンポジア シリーズ (ANALYTICAL CHEMISTRY SYMPOSIA SERIES)」, (米国), 7, 1981年, p35-38

【非特許文献7】「リピッド (LIPIDS)」, (米国), 29 (12), 1994年, p819-823

【非特許文献8】「アニュアル レビュー オブ セル バイオロジー (ANNUAL REVIEW of CELL BIOLOGY)」, (米国), 8, 1992年, p67-113

【非特許文献9】「ネイチャー ジェネティクス (NATURE GENETICS)」, (米国), 22, 1999年, 336-345

【非特許文献10】「ネイチャー ジェネティクス (NATURE GENETICS)」, (米国), 22, 1999年, 347-351

【非特許文献11】「ネイチャー ジェネティクス (NATURE GENETICS)」, (米国), 22, 1999年, 352-355

【非特許文献12】「ザ ジャーナル オブ クリニカル インベスティゲーション (THE JOURNAL of CLINICAL INVESTIGATION)」, (米国), 104, 1999年, R25-R31

【非特許文献13】「ザ ファセブ ジャーナル (THE FASEB JOURNAL)」, (米国), 15, 2001年, 1555-1561

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

以上述べたように、低HDL血症は、高脂血症、肥満、糖尿病等において広く見られ、心筋梗塞や脳梗塞等の動脈硬化性疾患の重大な危険因子であるところ、本発明は、特定のビスフェノール型化合物を用いてABCA1を安定化させ、それを増加させることで、HDLの産生を高め、動脈硬化を始めとする種々の疾患の予防・治療剤を提供するものである。

【課題を解決するための手段】

【0012】

本発明者らは、前記従来技術の欠点を克服すべく、HDLの新生機構に作用する有用な低HDL血症予防・治療剤を見出すために、種々の物質について検討を重ね、ABCA1の分解を抑制することにより、ABCA1の増加をもたらすシステインプロテアーゼインヒビターを有効成分とする低HDL血症予防・治療剤を見出し、特許出願を行い、すでにW003/33023として出願公開されているところである。

今回、前記ビスフェノール型化合物が、ABCA1の分解を抑制することによりABCA1を継続的かつ安定に発現させ、HDLを上昇させる作用を有することを見出し、さらに検討を重ね

、本発明を完成した。このようなビスフェノール型化合物のHDL上昇作用は、これまでに知られているプロブコールのABCA1機能阻害によるHDL低下作用とは正反対の薬理作用であり、上記公知技術からは全く予想できないものであり、本発明は、プロブコールの欠点を解消した薬剤といえることができる。

【発明の効果】

【0013】

本発明に係るプロブコールスピロキノン、プロブコールジフェノキノンおよびプロブコールビスフェノールから選択されるビスフェノール型化合物を有効成分とするABCA1安定化剤は、遺伝子工学の技術を必要とせず、同従来技術とは全く異なる機序でABCA1を継続的かつ安定に発現させることから、低HDL血症を始めとするABCA1発現低下に起因する種々の疾患に対して改善効果があり、さらに、従来から医薬品として用いられているプロブコールの代謝物を使用することで医薬品としての安全性が高いという利点がある。

【発明を実施するための最良の形態】

【0014】

本発明は、

1) プロブコールスピロキノン、プロブコールジフェノキノンおよびプロブコールビスフェノールまたはそれらの塩から選択されるビスフェノール型化合物を有効成分とするABCA1安定化剤；

2) 上記1)に記載のABCA1安定化剤からなる低HDL血症予防・治療剤；

3) 上記1)に記載のABCA1安定化剤からなる動脈硬化症予防・治療剤；および

4) 上記1)～3)に記載のABCA1安定化剤、低HDL血症予防・治療剤または動脈硬化症予防・治療剤に糖尿病治療薬、糖尿病合併症治療薬、抗肥満薬、高血圧治療薬、高脂血症治療薬、利尿剤、抗血栓剤またはアルツハイマー病治療薬から選択される1種以上の薬剤を組み合わせることからなる薬剤を提供するものである。

【0015】

上記のプロブコールスピロキノン、プロブコールジフェノキノンおよびプロブコールビスフェノールは、化学的合成法、例えば後述の実施例に記載した方法に従って合成することができる。また、これらの化合物は、プロブコールを哺乳動物へ投与した場合の生体内代謝物から通常の生化学的手法および化学的手法を用いて単離、精製することも可能である。

【0016】

上記のビスフェノール型化合物の中で、造塩可能な場合、適当な塩としては、薬理学的に許容し得る塩、例えば無機または有機塩基との塩、中性、塩基性または酸性アミノ酸との塩等が挙げられる。無機塩基との塩の好適な例としては、例えばナトリウム、カリウム等のアルカリ金属、カルシウム、マグネシウム等のアルカリ土類金属、ならびにアルミニウム、アンモニウム等との塩が挙げられる。有機塩基との塩の好適な例としては、例えばトリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン、N, N-ジベンジルエチレンジアミン等との塩が挙げられる。中性アミノ酸との塩の好適な例としては、例えばグリシン、バリン、ロイシン等との塩が挙げられ、塩基性アミノ酸との塩の好適な例としては、例えばアルギニン、リジン、オルニチン等との塩が挙げられ、酸性アミノ酸との塩の好適な例としては、例えばアスパラギン酸、グルタミン酸等との塩が挙げられる。

【0017】

上記ABCA1安定化剤とは、肝臓、小腸、胎盤、副腎を始めとする各種臓器の細胞の主に細胞膜に存在するABCA1を継続的かつ安定に発現させる薬剤である。

【0018】

上記低HDL血症予防・治療剤とは、前述の低HDL血症を予防・治療する薬剤である。低HDL血症は、特に、動脈硬化症、高脂血症、脳梗塞、肥満、糖尿病、甲状腺機能異常、肝硬変、骨髄腫、慢性腎不全、慢性炎症性腸疾患（例：クローン病、潰瘍性大腸炎）等の疾患において見られるが、本発明のABCA1安定化剤からなる低HDL血症予防・治療剤は、Tangie

r病等のABCA1が生体内で正常に合成されない遺伝的疾患を除き、上記疾患のいずれの場合の低HDL血症の予防・治療にも使用することができる。

【0019】

上記動脈硬化症予防・治療剤とは、動脈硬化症を予防・治療する薬剤である。本発明のABCA1安定化剤は、後述の試験例からも明らかなように優れたHDL新生反応促進作用を示し、血中HDLを増加させることが可能である。血中HDLは、前述したように動脈硬化に対して予防的に作用するとされているコレステロール逆転送系において主要な役割を果たしており、本発明薬剤は、その血中HDL増加作用により、動脈硬化症の予防・治療剤としても有用である。

すなわち、低HDL血症の場合、HDLの減少により、コレステロール逆転送系が十分に機能できず、血管壁に蓄積したコレステロールが血管外へ搬出されにくくなるため動脈硬化が促進されるが、本発明の低HDL血症予防・治療剤は、このような状態を改善することが可能であり、動脈硬化症に対して、予防的にも治療的にも使用される。

【0020】

さらに、本発明のABCA1安定化剤は、以下に示すようなABCA1の発現低下に起因すると考えられる種々の疾患に有効である。

冠動脈疾患（心筋梗塞、狭心症、無症候性心筋虚血、冠動脈硬化症を含む）、アテローム性動脈硬化症、頸動脈硬化、脳血管障害（脳卒中、脳梗塞を含む）、閉塞性動脈硬化症、脂肪肝、肝硬変、骨髄腫、糖尿病、糖尿病合併症、皮膚疾患、黄色腫、関節疾患、増殖性疾患、末梢動脈閉塞症、虚血性末梢循環障害、肥満、脳腱黄色腫（cerebrotendinous xanthomatosis: CTX）、慢性腎不全、糸球体腎炎、動脈硬化性腎症、血管肥厚、インターベンション（経皮的冠動脈形成術、経皮的冠動脈血行再開術、ステント留置、冠動脈内視鏡、血管内超音波、冠注血栓溶解療法を含む）後の血管肥厚、バイパス手術後の血管再開塞・再狭窄、高脂血症に関連の強い腎症・腎炎および膵炎、高脂血症（家族性高コレステロール血症、食後高脂血症を含む）、慢性炎症性腸疾患（クローン病、潰瘍性大腸炎を含む）、間欠性跛行、深部静脈血栓症、マラリア脳症、アルツハイマー病、または創傷もしくは発育不全に伴う疾患。

【0021】

本発明のABCA1安定化剤、低HDL血症予防・治療剤および動脈硬化症予防・治療剤は、単独で、もしくは、後述するように他の薬剤と組み合わせて、好ましくは薬剤学的に許容される添加物を加えた製剤の形で投与される。その投与経路としては、経口および注射による経路が採用される。さらに、上記製剤として、外用剤（経皮製剤、軟膏剤等）、坐剤（直腸坐剤、膣坐剤等）、ペレット、経鼻剤、吸入剤、点眼剤等が挙げられる。また、上記製剤においては、いずれの投与経路による場合も、公知の製剤添加物から選択された成分（以下「製剤成分」ということもある）を適宜使用することができる。具体的な公知の製剤添加物は、例えば、（1）医薬品添加物ハンドブック、丸善（株）、（1989）、（2）医薬品添加物事典、第1版、（株）薬事日報社（1994）、（3）医薬品添加物事典追補、第1版、（株）薬事日報社（1995）および（4）薬剤学、改訂第5版、（株）南江堂（1997）に記載されている成分の中から、投与経路および製剤用途に応じて適宜選択することができる。

【0022】

例えば、経口投与による場合、上記添加物としては、経口剤を構成できる製剤成分であって本発明の目的を達成し得るものならばどのようなものでも良いが、通常は、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、コーティング剤（味のマスキングを含む）等公知の製剤成分が選択される。具体的な経口剤としては、錠剤（舌下錠、口腔内崩壊錠を含む）、カプセル剤（ソフトカプセル、マイクロカプセルを含む）、顆粒剤、細粒剤、散剤、トローチ剤、シロップ剤等が挙げられる。なお、当該経口剤には、公知の製剤成分を用いて、有効成分であるプロブコールスピロキノン、プロブコールジフェノキノンおよびプロブコールビスフェノールの体内での放出をコントロールした製剤（例：速放性製剤、徐放性製剤）も含まれる。

【0023】

また、注射による場合、上記添加物としては、水性注射剤もしくは非水性注射剤を構成できる製剤成分が使用され、通常は溶解剤、溶解補助剤、懸濁化剤、等張化剤、緩衝剤、安定剤、保存剤等の公知の製剤成分が使用されるが、さらに投与時に溶解あるいは懸濁して使用するための粉末注射剤を構成する公知の製剤成分であっても良い。水性注射剤の製剤成分としては、例えば、注射用蒸留水、等張の滅菌された塩溶液（リン酸1ナトリウムまたは2ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウムまたは塩化マグネシウム等、もしくはこのような塩の混合物を含む）等が、非水性注射剤の製剤成分としては、例えば、オリーブ油、ゴマ油、綿実油、コーン油等の植物油、プロピレングリコール、マクロゴルド、トリカプリリン等が挙げられ、これらに溶解、懸濁あるいは乳化することにより製造される。具体的な注射剤としては、皮下注射剤、静脈内注射剤、筋肉内注射剤、腹腔内注射剤、点滴剤等が挙げられる。

【0024】

本発明のABCA1安定化剤、低HDL血症予防・治療剤および動脈硬化症予防・治療剤の効果的な投与量は、投与される患者の年齢、体重、低HDL血症もしくは動脈硬化症の症状、合併症の有無等によって異なり、適宜調整されるが、通常、経口投与の場合、0.1mg~3,000mg/日程度、または注射の場合、0.1mg~1,000mg/日程度投与される。

【0025】

本発明のABCA1安定化剤、低HDL血症予防・治療剤および動脈硬化症予防・治療剤は、作用の増強、投与量の低下および副作用の低減等を目的として、その効果に悪影響を及ぼさない1種以上の他の薬剤と組み合わせて用いることもできる。組み合わせることができる併用薬剤は、低分子化合物、ポリペプチド、抗体またはワクチン等であってもよく、例えば、「糖尿病治療薬」、「糖尿病合併症治療薬」、「抗肥満薬」、「高血圧治療薬」、「高脂血症治療薬」、「利尿剤」、「抗血栓剤」、「アルツハイマー病治療薬」等が挙げられる。

【0026】

上記「糖尿病治療薬」としては、例えばインスリン分泌促進剤、ビッグアニド剤、インスリン、 α -グルコシダーゼ阻害剤等が挙げられる。インスリン分泌促進剤としては、例えばトルブタミド、クロルブタミド、クロルプロパミド、トラザミド、アセトヘキサミド、グリクロピラミド、グリベンクラミド、グリクラジド、グリブゾール、グリメピリド、ナテグリニドまたはミチグリニド等が挙げられる。ビッグアニド剤としては、例えばフェンホルミン、メトホルミン、ブホルミン等が挙げられる。 α -グルコシダーゼ阻害剤としては、例えばアカルボース、ボグリボース、ミグリトール、エミグリトール等が挙げられる。

【0027】

上記「糖尿病合併症治療薬」としては、例えばアルドース還元酵素阻害薬等が挙げられ、例えばエパルレストアット、アルプロスタジル、塩酸メキシレチン等が挙げられる。

【0028】

上記「抗肥満薬」としては、例えばリパーゼ阻害薬、食欲抑制薬等が挙げられる。リパーゼ阻害薬としては、例えばオルリスタットなどが挙げられる。食欲抑制薬としては、例えばデクスフェンフラミン、フルオキセチン、シブトラミン、バイアミン等が挙げられる。

【0029】

上記「高血圧治療薬」としては、例えばアンジオテンシン変換酵素阻害薬、カルシウム拮抗薬、アンジオテンシンII拮抗薬等が挙げられる。アンジオテンシン変換酵素阻害薬としては、例えばカプトプリル、エナラプリル、アラセプリル、デラプリル、リジノプリル、イミダプリル、ベナゼプリル、シラザプリル、ペリンドプリル、キナプリル、テモカプリル、トランドラプリル、マニジピン等が挙げられる。カルシウム拮抗薬としては、例えばニフェジピン、アムロジピン、エホニジピン、ニカルジピン等が挙げられる。アンジオテンシンII拮抗薬としては、例えばロサルタン、カンデサルタンシレキシチル、バルサル

タン、イルベサルタン等が挙げられる。

【0030】

上記「高脂血症治療薬」としては、例えばHMG-C o A還元酵素阻害薬、フィブレート系高脂血症用剤等が挙げられる。HMG-C o A還元酵素阻害薬としては、例えばプラバスタチン、シンバスタチン、ロバスタチン、アトルバスタチン、フルバスタチン等のスタチン系薬剤が挙げられる。フィブレート系高脂血症用剤としては、例えばベザフィブレート、クリノフィブレート、クロフィブレート、フェノフィブレート、シンフィブレート等が挙げられる。上記以外にも、「高脂血症治療薬」としては、例えば陰イオン交換樹脂（例、コレステラミンなど）、ニコチン酸系薬剤（例、ニコモール(nicomol)、ニセリトロール(niceritrol)など）、イコサペント酸エチル等が挙げられる。

【0031】

上記「利尿剤」としては、例えばチアジド系製剤等が挙げられ、例えばシクロペンチアジド、トリクロルメチアジド、ヒドロクロロチアジド、ヒドロフルメチアジド、ベンチルヒドロクロロチアジド、ペンフルチジド、メチクロロチアジド等が挙げられる。上記の他、例えばイソソルビド、フロセミド等も挙げられる。

【0032】

上記「抗血栓剤」としては、例えばヘパリン、ワルファリン、抗トロンビン薬、血栓溶解剤、血小板凝固抑制剤（抗血症板薬）等が挙げられる。

【0033】

上記「アルツハイマー病治療剤」としては、例えばドネペジル、リバスタグミン、ガラントミン等が挙げられる。

【0034】

本発明のABCA1安定化剤、低HDL血症予防・治療剤および動脈硬化症予防・治療剤と併用薬剤との組み合わせによる投与形態は特に限定されるものではなく、単に併用されていればよい。例えば、両者を同時に製剤化して単一の製剤としての投与、両者を別々に製剤化して同一投与経路で同時あるいは時間差をおいての投与、両者を別々に製剤化して異なる投与経路で同時あるいは時間差をおいての投与等が挙げられる。

【実施例】

【0035】

次に、本発明を合成例、試験例および製剤例による実施例をもってさらに詳細に説明するが、本発明はこれらによって限定されるものではない。

【0036】

合成例1 プロブコールスピロキノンの合成

プロブコール (981mg, 1.9mmol; 和光純薬(株)製) および酸化鉛 (4.04g) をジクロロメタン (20mL) 中、一晚攪拌した。その混合物をろ過し、溶媒を留去した後、メタノールで洗浄、乾燥して、プロブコールスピロキノンの結晶 (912mg, 93%) を得た。なお、質量分析のCI-MSは日本電子MS700型二重収束型質量分析計を用いて測定し、元素分析はエレメンタル製Vario EL型CHN自動分析装置を用いて測定した。

mp 156-158°C

^1H NMR(CDCl₃) δ : 1.20(36H, s), 2.01(6H, s), 6.88(4H, s)

CI(positive)-MS(m/z): 515(M+1), 473(M-C₃H₆), 441(M-C₃H₆S+1), 409(M-C₃H₆S₂+1, diphenouinone+1), 279(M-C₁₄H₂₀OS+1), 237(C₁₄H₂₀OS+1)

Anal. calcd. for C₃₁H₄₆O₂S₂: C, 72.32; H, 9.01. Found: C, 72.3; H, 9.0

【0037】

合成例2 プロブコールジフェノキノンの合成

Tadaらの方法[Bull. Chem. Soc., 45, 2558-2559(1972)]に従い、2, 6-ジ-tert-ブチルフェノール (309mg, 1.5mmol) のメタノール溶液 (100mL) をフタロシアニン-Fe(II) (853mg, 1.5mmol) の存在下、室温で5時間、酸化した。この反応混合物を反応が終了するまで攪拌し、溶媒を留去した。得られた残渣をエーテルに溶解、ろ過後、溶媒を留去して、プロブコールジフェノキノンの結晶 (340mg, 100%) を得た。なお、質量分析のEI-MS

については、日本電子AX505W型二重収束型質量分析を用いて測定した。

mp 223-225°C

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3) \delta$: 1.37(36H, s), 7.71(4H, s)

EI-MS (m/z) : 408(M), 393(M-CH₃), 351(M-C₄H₉)

【0038】

合成例3 プロブコールビスフェノールの合成

合成例2で得られたプロブコールジフェノキノン(349mg, 0.86mmol)のメタノール(20mL)およびジクロロメタン(20mL)の溶液に、窒素雰囲気下、水素化ホウ素ナトリウム(72mg, 1.88mmol)を加えた。この反応混合物を1時間攪拌後、溶媒を留去した後、水洗、乾燥して、プロブコールビスフェノールの結晶(244mg, 70%)を得た。なお、質量分析のEI-MSについては、日本電子AX505W型二重収束型質量分析を用いて測定した。

mp 184-186°C

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3) \delta$: 1.49(36H, s), 5.18(2H, s), 7.30(4H, s)

EI-MS (m/z) : 410(M), 395(M-CH₃)

【0039】

試験例1 THP-1細胞を用いたプロブコールスピロキノン、プロブコールジフェノキノンおよびプロブコールビスフェノールによるABCA1の発現上昇作用

<試験法>THP-1細胞(ヒト白血病細胞; アメリカンタイプカルチャーコレクション社製)をPMA(ホルボールミリステートアセテート; $3.2 \times 10^{-7}\text{M}$; 和光純薬工業(株)製)の存在下に10%FBS-RPMI1640培地(岩城硝子(株)製)を用いて72時間培養することによりマクロファージへと分化させた。プロブコールスピロキノン(合成例1)、プロブコールジフェノキノン(合成例2)およびプロブコールビスフェノール(合成例3)をTsujiitaらの方法[BIOCHEMISTRY, 35, 13011-13020(1996)]に従い、アセチルLDLに取り込ませた後、細胞培養液に添加した。この細胞培養液で前記細胞を48時間培養後、apoAIの存在下または非存在下でさらに24時間培養後、下記の方法に従い、細胞内ABCA1の発現量を測定した。

上記薬剤処理細胞および薬剤処理を行っていない未処理細胞を5mMのTris-HCl(pH8.5)中で低張破砕後、遠心(650g, 5分間)し核分画を沈殿させた。上清を105,000g、30分間遠心し、total membrane分画を回収した。Total membraneを0.9Mウレア、0.2%トリトンX-100、0.1%ジチオスレイトール溶液に溶解後、1/4量の10%リチウムドデシルサルフェート溶液を加え、10%SDS-7%ポリアクリルアミドゲルにて電気泳動分離した。分離した蛋白をPVDF membrane(バイオラッド社製)に固定・転写した後、抗ヒトABCA1ウサギ抗体(通常の手法を用いた自己精製)を用いたイムノブロッティングにてABCA1蛋白の発現量を解析し、さらに得られた当該発現量のバンドの濃さ・太さをScion Image(画像解析ソフト; Scion社製)で読み取って数値化し、未処理細胞に対する相対比を算出することで、試験化合物のABCA1発現活性を評価した。結果を[表1]に示す。

【0040】

<結果>[表1]に示されるように、プロブコールスピロキノン、プロブコールジフェノキノンおよびプロブコールビスフェノールで処理したTHP-1細胞では、未処理細胞と比較して細胞内のABCA1の発現が顕著に増加することが認められた。

[表1]

試験化合物	ABCA1 発現量 (相対比%)
未処理	100
プロブコールスピロキノン	191
プロブコールジフェノキノン	173
プロブコールビスフェノール	153

【0041】

試験例2 プロブコールスピロキノン、プロブコールジフェノキノンおよびプロブコールビスフェノールによるHDL新生反応促進作用

＜試験法＞Arakawaらの方法[J.LIPID RES., 41, 1952-1962(2000)]に従い、試験例1で得られた培養細胞を用いて、apoAI依存性のHDL新生反応に基づき培地中に搬出されたコレステロールおよびリン脂質を解析し、薬剤処理細胞と未処理細胞を比較した。得られた結果は、試験例1と同様に数値化し、未処理細胞に対する相対比を算出することで、試験化合物のHDL新生反応促進作用を評価した。結果を[表2]に示す。なお、比較化合物としてプロブコール(和光純薬工業(株)製)を用い、上記と同様にHDL新生反応促進作用を測定した。

【0042】

＜結果＞[表2]に示されるように、プロブコールスピロキノン、プロブコールジフェノキノンおよびプロブコールビスフェノールで処理したTHP-1細胞では、未処理細胞と比較してapoAI依存性のHDLコレステロール搬出において約1.3～1.6倍、リン脂質搬出において1.4～2.0倍の増加が認められた。一方、プロブコールで処理したTHP-1細胞では、未処理細胞と比較してapoAI依存性のHDLコレステロール搬出は認められず、リン脂質搬出においても1/3以下に減少させた。

[表2]

試験化合物	HDL コレステロール 搬出 (相対比%)	リン脂質搬出 (相対比%)
未処理	100	100
プロブコールスピロキノン	148	151
プロブコールジフェノキノン	159	200
プロブコールビスフェノール	137	144
プロブコール	0	34

【0043】

試験例3 毒性試験

マウスにプロブコールスピロキノン、プロブコールジフェノキノンおよびプロブコールビスフェノールを1週間経口投与した結果、特に異常と考えられる所見は見られなかった。

【0044】

以上のように、本発明のABCA1安定化剤は、遺伝子工学の技術を用いることなく、ABCA1を継続的かつ安定に発現させ、さらに、HDLの新生反応を促進し、低HDL血症予防・治療剤として有効であることが上記試験により確認された。

【0045】

製剤例1

本発明のプロブコールスピロキノン200mg、乳糖100mg、トウモロコシデンブン28mg、ステアリン酸マグネシウム2mg

上記処方について日局XIVの製剤総則記載の公知方法に従ってカプセル剤を得た。

【0046】

製剤例2

本発明のプロブコールスピロキノン25mgを、塩化ナトリウムの適量を含む注射用蒸留水10mlから製した等張化水溶液に溶解し、アンプルに充填・密封後、滅菌して注射剤を得た。

【産業上の利用可能性】

【0047】

本発明におけるプロブコールスピロキノン、プロブコールジフェノキノンおよびプロブコールビスフェノールから選択されるビスフェノール型化合物を有効成分とするABCA1安定化剤は、煩雑な遺伝子工学技術を必要とせず、ABCA1を継続的かつ安定に発現させ、低HDL血症、動脈硬化症を始めABCA1の発現低下に起因する様々な疾患に対して有効な薬剤である。また、本発明のABCA1安定化剤は、既に医薬品として安全性が確認されているプロブコールの代謝物を使用することで医薬品としての安全性が高い点でも有用である。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 HDLの新生機構に焦点を合わせた薬理的に有用な低HDL血症予防・治療剤を提供する。

【解決手段】 本発明のプロブコールスピロキノン、プロブコールジフェノキノンおよびプロブコールビスフェノールから選択されるビスフェノール型化合物を有効成分とするABCA1安定化剤は、従来技術とは全く異なる機序でABCA1を継続的かつ安定に発現させて血中HDLを上昇させることができ、低HDL血症、動脈硬化症等の予防・治療剤として有用である。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2 0 0 4 - 0 0 7 9 5 5
受付番号	5 0 4 0 0 0 6 0 8 1 2
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0 0 9 4
作成日	平成 1 6 年 1 月 1 6 日

<認定情報・付加情報>

【提出日】 平成16年 1月15日

特願 2 0 0 4 - 0 0 7 9 5 5

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[0 0 0 1 0 5 1 2 1]

1. 変更年月日

2 0 0 0 年 7 月 2 7 日

[変更理由]

住所変更

住 所

東京都羽村市栄町三丁目 4 番地 3

氏 名

グレラン製薬株式会社